

PCT/JP 99/00833

09/623138

24.02.99

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 16 APR 1999

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1998年 2月26日

出 願 番 号

Application Number:

平成10年特許願第044757号

出 願 人

Applicant (s):

中外製薬株式会社

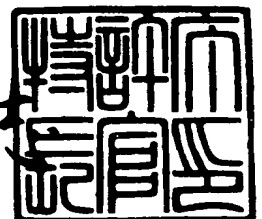
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 4月 2日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

山 佐 健 一



出証番号 出証特平11-3019471

【書類名】 特許願

【整理番号】 980270

【提出日】 平成10年 2月26日

【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿

【国際特許分類】 A61K

【発明の名称】 ランゲルハンス細胞遊走阻害剤

【請求項の数】 9

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市上京区河原町通広小路上ル 京都府立医科大学内

 【氏名】 木下 茂

【特許出願人】

 【識別番号】 000003311

 【氏名又は名称】 中外製薬株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100089705

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 社本 一夫

 【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

 【識別番号】 100071124

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 今井 庄亮

 【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

 【識別番号】 100076691

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 増井 忠式

 【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100075236

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗田 忠彦

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100075270

【弁理士】

【氏名又は名称】 小林 泰

【電話番号】 03-3270-6641

【選任した代理人】

【識別番号】 100098590

【弁理士】

【氏名又は名称】 中田 隆

【電話番号】 03-3270-6641

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705604

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ランゲルハンス細胞遊走阻害剤

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 活性型ビタミン D を有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 2】 活性型ビタミン D が、ビタミン D₃、ビタミン D₃ 誘導体又はビタミン D₃ 類似体である請求項 1 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 3】 活性型ビタミン D がビタミン D₃ である請求項 2 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 4】 活性型ビタミン D₃ がカルシトリオール又は 22-オキサカルシトリオールである請求項 3 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 5】 点眼剤である請求項 1～4 のいずれか 1 項に記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 6】 眼の炎症の予防及び治療に用いる請求項 5 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 7】 眼の炎症が角結膜炎である請求項 6 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 8】 眼の炎症の予防に用いる請求項 5 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【請求項 9】 眼の炎症が角膜フリクテン又は角膜浸潤である請求項 8 記載のランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ランゲルハンス細胞遊走阻害剤に関し、より特定的には、活性型ビタミン D を有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

ランゲルハンス細胞は、皮膚への外来抗原を取り込んで、リンパ管に移動し、

ペール細胞となってその抗原を細胞内で部分分解し、次いで近くのリンパ系器官に移動してT細胞にこの抗原を提示することにより、そのT細胞を接触皮膚炎を引き起こす細胞へと分化させる。また、ランゲルハンス細胞は、角膜において、角膜輪部から中央部へ侵入して種々のサイトカインを産生し、免疫反応性の炎症を引き起こすことが知られている。

このように、ランゲルハンス細胞は、皮膚及び角膜における免疫反応による炎症の発生段階に深く関与する細胞であるから、外来抗原の侵入部位においてその細胞数を少なく維持すれば、周辺における炎症の予防が可能になると考えられる。とりわけ、角膜における炎症は、角膜の透明性を低下させて患者の視力を低下させるので、その予防は特に重要である。

現在、皮膚や角膜の免疫反応を抑制するには、ステロイドやシクロスポリンA等の強力な薬剤が使用されているが、これら薬剤は種々の副作用を有するので、炎症が発生していない段階では使用し難い。従って、炎症が発生する前でも安心して使用できる、より副作用が少ない薬剤の開発が望まれている。

【0003】

米国特許第4,610,478号は、活性型ビタミンDである1- α -ヒドロキシコレカルシフェロール又は1- α ,25-ジヒドロキシコレカルシフェロールを含有する、皮膚炎の局所処置のための組成物を開示している。

特表平5-503922(WO91/05537)は、ビタミンD化合物を患者に投与することからなる、創傷の治療を促進する方法を開示している。

WO96/29079は、活性型ビタミンDを有効成分とする、眼球前眼部内の炎症を治療するための眼科用組成物を開示している。

これら文献は、ステロイド等に代えて活性型ビタミンDを用いることにより、副作用の少ない抗炎症剤及び治療方法を提供するものであるが、いずれも既に発生した炎症の治療に向けられており、免疫反応性の炎症の発生段階に深く関係するランゲルハンス細胞の遊走を阻害することを示唆していない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、皮膚や角膜の免疫反応による炎症を予防し、並びに炎症が発生した

後にはそれを治療することもできる、より副作用の少ない医薬組成物を提供することを目的とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明は、活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤を提供する。

本発明のランゲルハンス細胞遊走阻害剤を適用すべき炎症としては、アレルギー性角結膜炎、春季カタル、及びび慢性角結膜炎などの角結膜表層の炎症、並びに角膜変性症、角膜浸潤及び角膜フリクテンなどの角膜実質層に及ぶ炎症が挙げられる。特に、アレルギー性角結膜炎に適用するのが好ましい。

本発明の組成物の有効成分である活性型ビタミンDには、コレカルシフェロール誘導体、コレカルシフェロール類似体、エルゴカルシフェロール誘導体、エルゴカルシフェロール類似体、及び側鎖に親水基を設けた親水性の活性型ビタミンD類似体等が含まれる。これら活性型ビタミンDは、天然のものでも合成されたものであってもよい。具体的な活性型ビタミンDの例には、カルシトリオール（ $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 ）、 $1\alpha, 24$ -ジヒドロキシビタミン D_3 、アルファカルシドール（ 1α -ヒドロキシビタミン D_3 ）、カルシフェドール（ 25 -ヒドロキシビタミン D_3 ）、 $1\alpha, 25, 26$ -トリヒドロキシビタミン D_3 、 $1\beta, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 、 24 -ホモ- $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 、 26 -ホモ- $1\alpha, 25$ -ジヒドロキシビタミン D_3 、OCT（ 22 -オキサカルシトリオール）、及びカルシポトリオールが含まれる。好ましい活性型ビタミンDは、ビタミン D_3 、ビタミン D_3 誘導体及びビタミン D_3 類似体である。具体的には、カルシトリオール及び 22 -オキサカルシトリオールが挙げられる。

【0006】

本発明のランゲルハンス細胞遊走阻害剤は、一般に、活性型ビタミンDを製剤上の担体と共に含有する医薬組成物の形態で用いられ、溶液剤又は軟膏剤などとして局所投与用に製剤される。眼科用組成物の塗布剤として製剤されるのが好ましく、特に点眼剤が好ましい。これら製剤に用いられる担体の例には、水、エタ

ノール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、アラビアガム、リン酸カルシウム、アルギネート、トラガcantガム、ゼラチン、メチルセルロース、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、コラーゲン、油脂、又は鉱油が含まれるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物は、これら担体の他に、安定化剤、保存剤、等張化剤、pH調製剤、酸化防止剤、及び着色剤などの他の添加剤を含ませることができる。安定化剤には、亜硫酸水素ナトリウム、グリセリン、エデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、及びブチルヒドロキシアニソールが含まれるが、これらに限定されない。保存剤には、塩化ベンザルコニウムが含まれるが、これらに限定されない。等張化剤には、塩化ナトリウム、D-マンニトール、グルコース、及びグリセリンが含まれるが、これらに限定されない。pH調製剤には、リン酸一ナトリウム、リン酸水素ナトリウムのようなリン酸塩、水酸化ナトリウム、及び塩酸が含まれるが、これらに限定されない。酸化防止剤にはビタミンCが含まれるが、これらに限定されない。

【0007】

本発明の医薬組成物は、当該技術分野で周知の方法により調製でき、速放性製剤、徐放性製剤、及び遅放性製剤のいずれの形態をとってもよい。本発明の組成物中における活性型ビタミンDの濃度は、その製剤の形態に依存して変動するが、一般に約 0.01 ng/ml ～約 $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ 、好ましくは約 1 ～約 100 ng/ml である。

【0008】

好ましい態様においては、活性型ビタミンDとして、カルシトリオール又は22-オキサカルシトリオールを、水又はエタノールに溶解させ、活性型ビタミンDの最終濃度が約 1 ～約 100 ng/ml である点眼剤を調製する。pHを一般に約 5.0 ～ 9.0 、好ましくは約 7.0 ～ 8.0 に調節する。活性型ビタミンDが溶解し難い場合には、ポリソルベート80、プロピレングリコール、ポリビニルピロリドンK30、又はポロキサマー188のような可溶化剤を加えてもよい。こうして調製された点眼剤は、症状に応じて1日1～4回、1回あたり1～数滴点眼するのが典型的であるが、この回数に限定されるものではない。

【0009】

本発明の組成物を、炎症を予防すべき部位に適用すると、免疫反応による炎症の発生を媒介すると考えられるランゲルハンス細胞の遊走が阻害される結果、その部位における炎症の発生を有意に防止することができる。また、炎症が既に発生している場合であっても、それを治療することができる。特に、炎症部位が角膜である場合には、角膜の透明性を低下させることなく炎症を治療することができる。

以下に実施例を示して本発明を説明するが、これら実施例は本発明の範囲を限定するものではない。

【0010】

【実施例】

実施例1

活性型ビタミンD₃ 原液（1 α -ヒドロキシビタミンD₃ 含有量，50mg/ml）をエタノールで1000倍に希釈し、これを更に眼科用生理緩衝液で100倍に希釈して、1 α -ヒドロキシビタミンD₃ 濃度が0.5 μ g/mlの眼科用組成物を調製した。

実施例2

カルシトリオール（1 α ，25-ジヒドロキシビタミンD₃）をエタノールで1000倍に希釈し、これを更に精製ゴマ油よりなる眼科用油性基剤で100倍に希釈して、カルシトリオール濃度が0.5 μ g/mlの眼科用組成物を調製した。

実施例3

60mgのビタミンC（L-アスコルビン酸-リン酸）を実施例1のやり方で調製した10mlの眼科用組成物に混合して溶解させ、ビタミンCが6mg/mlで活性型ビタミンD₃ が0.5 μ g/mlの混合液よりなる眼科用組成物を得た。

【0011】

試験例1

1 α ，25-ジヒドロキシビタミンD₃ を、リン酸ナトリウム、塩化ナトリウ

ム、エタノール、及びポリソルベート 80 からなる基剤に溶解させて、それぞれ $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ 、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ 、及び $1.0 \times 10^{-8} \text{M}$ の 3 種の溶液を調製した。別にステロイドであるデキサメタゾンナトリウムを同じ基剤に溶解させて 0.1% の溶液を調製した。

BALB/c マウスの角膜にランゲルハンス細胞を遊走させるため、同マウス 30 匹の片眼角膜中央部に 10-0 ナイロン糸を通して 2 針縫合して留置した。1 グループを 5 匹とする A~F の 6 グループに分け、A グループを無点眼グループ、B グループをステロイド点眼グループ (St)、C~E グループをそれぞれ上記 3 種の濃度のビタミン D_3 点眼グループ、そして F グループを基剤だけの点眼グループとした。

通糸翌日から 3 回/日の頻度で点眼を開始した。通糸 14 日後にマウスを屠殺して眼球を摘出し、免疫染色法で角膜上皮中央部におけるランゲルハンス細胞の密度の平均値を各グループごとに出した。結果を表 1 に示す。

【0012】

【表 1】

角膜上皮中央部におけるランゲルハンス細胞の密度

グループ	密度 (細胞/ mm^2)	p 値
A (無点眼)	5.0 ± 0.9	
B (St)	1.0 ± 0.3	< 0.005
C ($1.0 \times 10^{-6} \text{M}$)	3.3 ± 0.6	N. S.
D ($1.0 \times 10^{-7} \text{M}$)	2.5 ± 0.7	< 0.05
E ($1.0 \times 10^{-8} \text{M}$)	2.6 ± 0.5	< 0.025
F (基剤)	4.6 ± 0.8	

【0013】

表 1 から、無点眼グループ A 及び基剤点眼グループ F に比べて、ビタミン D_3 点眼グループの C~E では、ランゲルハンス細胞数が有意に減少していることが分かる。更に、ビタミン D_3 による減少は濃度非依存的である。これは、ランゲルハンス細胞の遊走阻害に関してビタミン D_3 が至適濃度を有する可能性を示唆している。一般に、免疫反応に関与する細胞の遊走阻害物質には、このような至

適濃度を有するものが多い。

【0014】

この点眼実験中、マウスの眼を1日おきに細隙灯顕微鏡で観察して、血管新生についても評価した。評価は、マウスの角膜を4象限にわけ各象限毎にその新生血管の長さを下記基準でスコアし、4象限のスコアの合計を1つの角膜の新生血管スコアとし（0～12点）、グループごとに平均値を出した。

スコア0：全く新生血管が認められないもの；

スコア1：新生血管の長さが角膜中央部（中心より1mm半径以内）に達しないもの；

スコア2：新生血管の長さが角膜中央部（中心より1mm半径以内）に達するが中心に及ばないもの；

スコア3：新生血管の長さが角膜中央に達するもの。

結果を図1に示す。図1から、ビタミンD₃は血管新生の抑制効果も有することが分かる。

【0015】

【図面の簡単な説明】

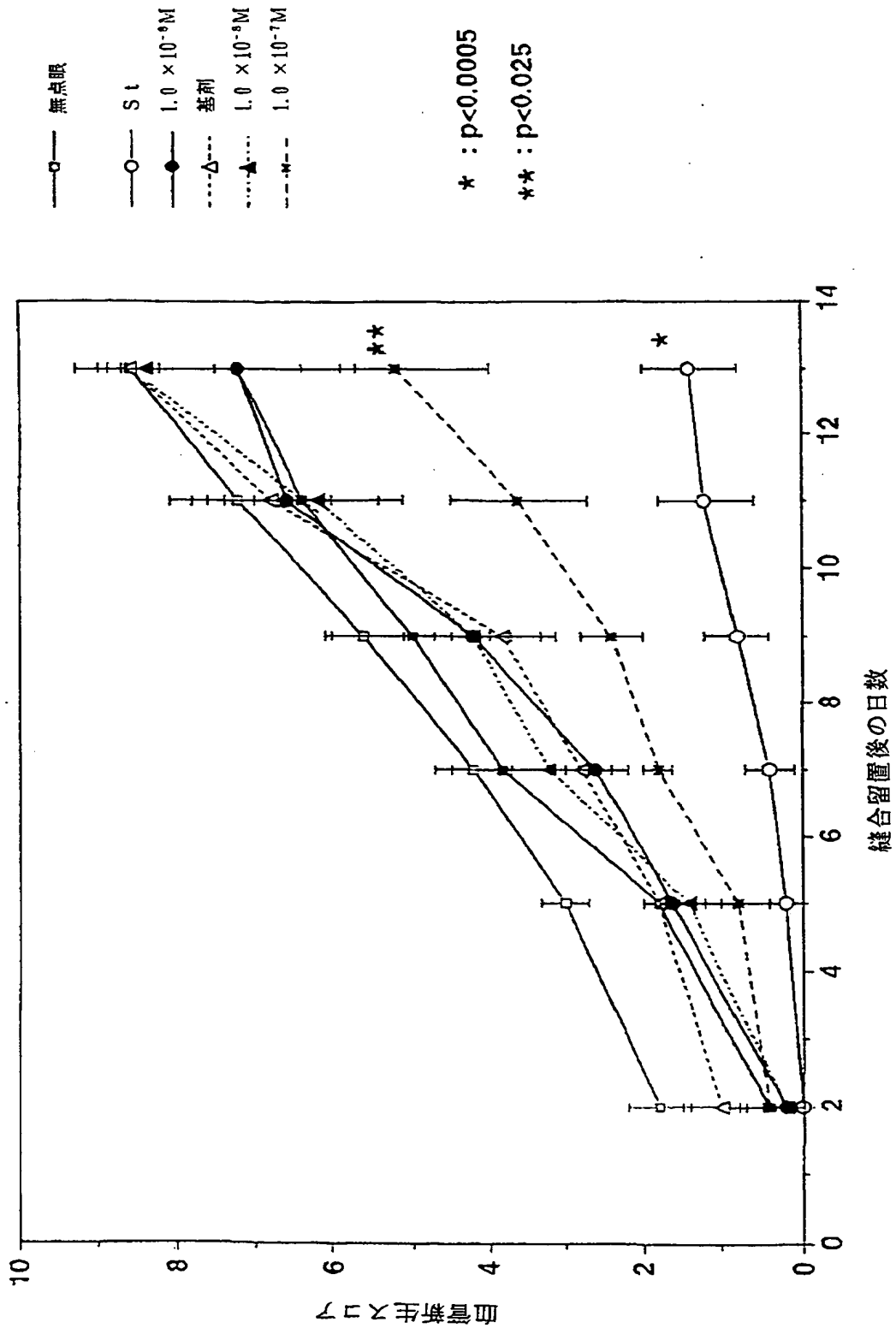
【図1】

試験例1のマウスの角膜における新生血管のスコアを表わすグラフである。縦軸がスコアを表わし、横軸は縫合留置後の日数を表わす。

【書類名】 図面

【図 1】

縫合により誘発された角膜の血管新生



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】皮膚や角膜の免疫反応による炎症を予防し、並びに炎症が発生した後はそれを治療するための、より副作用の少ない医薬組成物を提供する。

【解決手段】

活性型ビタミンDを有効成分とするランゲルハンス細胞遊走阻害剤。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】
【識別番号】 000003311
【住所又は居所】 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号
【氏名又は名称】 中外製薬株式会社
【代理人】 申請人
【識別番号】 100089705
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町 2 丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 社本 一夫
【選任した代理人】
【識別番号】 100071124
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町 2 丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 今井 庄亮
【選任した代理人】
【識別番号】 100076691
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 増井 忠武
【選任した代理人】
【識別番号】 100075236
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町 2 丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 栗田 忠彦
【選任した代理人】
【識別番号】 100075270
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町 2 丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 小林 泰
【選任した代理人】
【識別番号】 100098590
【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 206 区 湯浅法律特許事務所
【氏名又は名称】 中田 隆

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003311]

1. 変更年月日	1990年 9月 5日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都北区浮間5丁目5番1号
氏 名	中外製薬株式会社